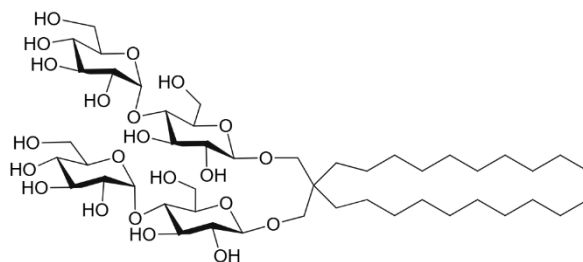


产品使用说明书

LMNG（月桂基麦芽糖新戊二醇）

货号：LMN01,LMN02,LMN03



产品参数

全名	2,2-二癸基丙烷-1,3-二基双[4-O- α -D-吡喃葡萄糖基- β -D-吡喃葡萄糖苷]；2,2-didecylpropane-1,3-diyl bis[4-O- α -D-glucopyranosyl- β -D-glucopyranoside]
物理性状	白色固体
CAS NO.	1257852-96-2
分子式	$C_{47}H_{88}O_{22}$
分子量	1005.19
纯度	$\geq 98.0\%$
CMC	(H ₂ O) ~ 0.01mM(1) (0.001%)
pH	5-8 (1% solution in water)
电导率	< 100 μ S (5% solution in water)
溶解度	$\geq 5\%$ (in water at 20°C)

产品描述

LMNG（月桂基麦芽糖新戊二醇）是新一代 MNG 类两亲性去垢剂，专为高性能膜蛋白研究开发。相较于传统去垢剂，LMNG 独特的新戊二醇核心骨架（双头双尾结构），使其兼具温和与高效的溶解能力，在提取膜蛋白的同时，可最大程度维持蛋白的天然构象与功能活性。

该产品可与其它去垢剂搭配使用，应用于 GPCR、离子通道等难稳定膜蛋白的提取纯化，冷冻电镜、蛋白结晶等结构生物学样品制备，以及药物靶点稳定性研究、生物分子相互作用分析等相关研究。

产品用途

- GPCR、离子通道等难稳定膜蛋白的提取与纯化
- 冷冻电镜、蛋白结晶等结构生物学样品制备
- 药物靶点稳定性研究
- 生物分子相互作用分析

产品储存与运输

- 常温运输。
- 粉末状态：-20°C条件下可保存 3 年
- 溶于溶剂后：-80°C条件下可保存 1 年

使用方法

LMNG 母液配制(10%w/v)

由于 LMNG 易吸潮，建议配制成 10%(100mg/mL)的高浓度母液储存。

- 1) 称量:在通风干燥环境中迅速称取 LMNG 固体。
- 2) 溶解:加入去离子水(或纯化缓冲液)，轻轻超声或冷室旋转摇晃至完全清澈。
- 3) 过滤分装:使用 0.22 μ m 滤膜过滤除菌，按单次用量分装(如 100 μ L/管)，-20 $^{\circ}$ C 避光保存(可稳定保存 6 个月以上，避免反复冻融)

实验方案

本部分以人源神经降压素受体 1 (hNTR1) 与腺苷 A2A 受体 (A2AR) 为例，提供 LMNG-CHS 体系应用于杆状病毒表达 GPCR 的溶膜提取及纯化亲和纯化参考方法。

1. 实验材料

去垢剂: LMNG(货号:LMN01/LMN02/LMN03), CHS(货号: CHS01/CHS02/CHS03)

辅助试剂: Tris-HCl、HEPES、NaCl、CaCl₂、MgCl₂、甘油、咪唑、蛋白酶抑制剂;

关键耗材与设备: 0.22 μ m 滤膜、固定化钴离子 IMAC 亲和层析树脂、体积排阻 SEC-250 分析色谱柱、4-12% SDS-PAGE 胶、模块化高效 HPLC 系统、高速冷冻离心机。(如您需要详细信息，可与我们联系)

2. 去垢剂溶液配制

- 1) 称取 3 g LMNG 粉末，加入约 40 mL 200 mM Tris-HCl (pH 8.0) 充分溶解后，定容至 50 ml，即得 6% (w/v) 母液。
- 2) 每管加入 1.2% CHS，超声处理至溶液完全透明无色，加溶剂定容至 50 mL。溶液经 0.22 μ m 滤膜过滤除菌后，分装置于-80 $^{\circ}$ C 条件下保存备用。

3. GPCR 家族膜蛋白表达与膜制备

- 1) 利用 Bac-to-Bac 杆状病毒表达系统构建人源 GPCR 家族膜蛋白 (hNTR1、A2AR 等) 重组杆状病毒，对 50 mL ExpiSf9 昆虫细胞进行病毒感染，实现目的蛋白表达。
- 2) 收集细胞沉淀，于冰上解冻后，重悬于低盐缓冲液 (20 mM HEPES pH 7.4、100 mM NaCl、5 mM CaCl₂、5 mM MgCl₂、10% 甘油，并添加蛋白酶抑制剂)。
- 3) 4 $^{\circ}$ C、100,000 g (如 Type 70 Ti 转子 35,000 rpm) 高速离心 30 min，收集细胞膜沉淀备用。

4. 膜蛋白提取与纯化

- 1) 膜重悬与匀浆破碎: 将细胞膜沉淀重悬于缓冲液 (20 mM HEPES pH 7.4、100 mM NaCl、5 mM MgCl₂、5 mM CaCl₂，补加蛋白酶抑制剂)，使用 Dounce 充分破碎混匀，均分为 2 份，每份体积 1 mL。
- 2) 膜蛋白溶解: 加入 LMNG&CHS 工作液至终浓度 1% LMNG / 0.1% CHS (w/v) 处理样品，4 $^{\circ}$ C 旋转孵育 3 h，完成膜蛋白溶解。
- 3) 澄清与亲和结合: 100,000 g (如 Type 70 Ti 转子 35,000 rpm) 离心 30 min，收集上清; 取 60 μ L 固定化钴离子 IMAC 亲和层析树脂 (1 CV=30 μ L) 及含 20 mM 咪唑的溶液与上清在 4 $^{\circ}$ C 过夜孵育结合，实现目的蛋白与树脂结合。
- 4) 洗杂与洗脱:
洗杂: 使用 20 CV 含 20 mM HEPES (pH 7.4)、150 mM NaCl、30/50 mM 咪唑及 0.05% LMNG & 0.01% CHS 的缓冲液梯度洗涤，去除非特异性结合杂蛋白。
洗脱: 使用 5 CV 含 20 mM HEPES (pH 7.4)、150 mM NaCl、250 mM 咪唑及 0.01% LMNG & 0.002% CHS 的缓冲液洗脱，获得 GPCR 目的蛋白。

5. 样品分析验证

- 1) HPLC-SEC 分析: 取 60 μ L 蛋白样品上样至 SEC-250 色谱柱，采集色谱图谱，评价蛋白样品单分散性、聚集情况。
- 2) SDS-PAGE 分析: 取 30 μ L 洗脱蛋白样品，与 10 μ L 4 $\times$ 蛋白上样缓冲液充分混匀，取 30 μ L 混合样品上样，使用 4-12% 梯度 SDS-PAGE 胶进行电泳，分析目的蛋白纯度。

注意事项

1. 为了确保操作人员的安全与健康，实验全过程请务必穿戴实验服并佩戴一次性手套。
2. 本品所附带的部分产品技术信息仅供客户参考、学术交流与科学研究之用；我司不对所提供信息的绝对权威性与完整性作担保。
3. 本品仅供科学研究使用，严禁用于临床诊断、治疗、食品及药品等任何人体相关用途，禁止存放于普通住宅。
4. 实验体系中 LMNG 的终浓度必须高于其临界胶束浓度（CMC）；若浓度不足，胶束会发生解离，进而导致膜蛋白沉淀。
5. 使用超滤浓缩管（如 100 kDa MWCO）浓缩膜蛋白时，由于 LMNG 胶束聚集体尺寸较大，去垢剂会与蛋白一同被富集。建议将洗脱液中的 LMNG 浓度控制在 0.005%-0.01% 之间。若浓缩后去垢剂浓度过高，将干扰后续冷冻电镜制样（导致背景加深、冰层增厚）或蛋白结晶实验。

技术问答

可能出现的问题及解决方案：

技术问题	解决方案
LMNG 在水中的溶解度是多少，超声有助于溶解吗？	在纯水中，溶解度大于 5%。在配制溶液时，该产品溶解速度较慢，一般如果配置 5% 的水溶液，需多次剧烈震荡加速溶解，溶解时间 30min-1h。 超声对该产品的溶解速度有一定影响，但促进作用不是很明显，如果在产品溶解过程中出现部分产品附着在容器壁的情况，可通过多次剧烈震荡促使产品溶解。
部分 GPCR 在纯 LMNG 中构象异质性高、稳定性不足，难以满足结构生物学要求	将 CHS 与 LMNG 复配使用，能够显著提升 GPCR 的稳定性。 CHS 可使去垢剂胶束结构更贴近天然脂质双分子层；实验中常采用 LMNG:CHS = 10:1（质量比）进行混合增溶。